

## تشخیص و طبقه‌بندی انواع لوسمی با استفاده از معیارهای مورفولوژیک،

### سیتوشیمیائی و ایمونولوژیک در بیمارستانهای تهران\*

#### چکیده

سلولهای خونی ۲۲۱ بیمار مبتلا به لوسمی از نظر خصوصیات مورفولوژیک، سیتوشیمیائی و ایمونولوژیک مورد بررسی قرار گرفت. این بیماران شامل ۶۳ کودک و ۱۵۸ بزرگسال بودند. از گروه بزرگسالان ۱۱۰ مورد دارای لوسمی‌های حاد شامل ۶۷ درصد AML و ۳۳ درصد ALL بودند. در این گروه همچنین ۲۴ مورد CML، ۱۹ مورد CLL، ۴ مورد HCL و یک مورد Plasma cell leukemia تشخیص داده شد. از ۶۳ مورد لوسمی کودکان ۷۹/۴ درصد ALL، ۱۹ درصد AML و ۱/۶ درصد JCML تشخیص داده شد. در گروه بزرگسالان زیرگروه‌های AML مشخص شدند که در مقایسه با نتایج منتشره در کشورهای غربی فقط اختلاف معنی‌دار در زیرگروه M4 مشاهده شد که در این مطالعه در حد بیشتری بوده است ( $p < 0.001$ ).

زیرگروه‌های ALL در کودکان بیشتر از نوع L1 و در بزرگسالان از نوع L2 بود. در گروه بزرگسالان و فور CML شامل ۱۵/۲ درصد و CLL ۱۲ درصد بود که در مقایسه با ارقام منتشره از کشورهای آمریکا و اروپا کمتر می‌باشد. این اختلاف فقط در و فور CLL معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0.001$ ). ضمناً همه موارد CLL در این مطالعه از نوع B-CLL بوده و T-CLL که نسبتاً نادر است مشاهده نگردید.

بیشترین ایمونوفنوتیپ در گروه ALL کودکان متعلق به C-ALL (۶۸ درصد) و در گروه ALL بزرگسالان مربوط به T-cell ALL (۵۳ درصد) بود.

۲- مورفولوژی

۴- ایمونولوژی

کلید واژه‌ها: ۱- لوسمی

۳- سیتوشیمیائی

دکتر احمد کاظمی<sup>(۱)</sup>

دکتر پروانه وثوق<sup>(۱)</sup>

دکتر عبدالمجید معاضدی<sup>(۱)</sup>

دکتر پروین شاهنده<sup>(۲)</sup>

دکتر فاضل شکری<sup>(۳)</sup>

دکتر سودابه حسینی<sup>(۴)</sup>

دکتر فرانک احمدیه<sup>(۴)</sup>

دکتر آذرمدخت فرح‌بخش<sup>(۴)</sup>

\*- این مقاله در کنگره سالانه پاتولوژی در آذرماه ۱۳۷۵ در بیمارستان امام خمینی (ره) ارائه شده است.

۱- عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران

۲- عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی

۳- عضو هیأت علمی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

۴- دکترای علوم آزمایشگاهی

## مقدمه

انواع لوسمی‌ها گروه ناهمگونی را تشکیل می‌دهند که از نظر اتیولوژی، پاتوژنز و پیش‌آگهی با یکدیگر متفاوتند، لذا دستیابی به یک طبقه‌بندی جامع برای لوسمی‌ها آرزوی دیرین محققین بوده و هست. به هر حال در سالهای اخیر با استفاده از تکنیکهای ایمونولوژیک، سیتوژنیک و ژنتیک مولکولی پیشرفته‌های شایان توجهی در زمینه طبقه‌بندی لوسمی‌ها حاصل شده است (۴،۶،۹،۱۰ و ۱۲).

اساس طبقه‌بندی لوسمی‌ها بر پایه مورفولوژی و بر مبنای معیارهای تعیین شده توسط گروهی از هماتولوژیستهای فرانسوی، آمریکایی و انگلیسی معروف به گروه FAB می‌باشد که اولین بار در سال ۱۹۷۶ منتشر شد (۲). از آن پس نیز توسط این گروه مرتباً تغییراتی در آن داده شد و علیرغم ایراداتی که به آن وارد است امروزه در سراسر جهان کاربرد دارد (۳،۵ و ۱۵).

در مورد تشخیص ALL بر اساس معیارهای گروه FAB مشکل خاصی وجود ندارد ولی برای تشخیص افتراقی بین (ALL) *Acute Lymphoblastic Leukemia* و *Lymphoblastic Lymphoma* این معیارها کافی نبوده و نیاز به بررسی‌های دیگری می‌باشد. مواردی از *Acute myelocytic leukemia* می‌باشد که با *Myelodysplastic syndrome (MDS)* قابل اشتباه است و نظر به پروگنوز بهتر *MDS* و متفاوت بودن درمان *AML* با *MDS*، استفاده از معیارهای جدید گروه FAB برای تشخیص صحیح کمک‌کننده خواهد بود (۳ و ۴).

مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده که فاکتورهای محیطی، شغلی و ژنتیک در پاتوژنز لوسمی دخالت دارند، لذا شیوع لوسمی در کشورهای پیشرفته و صنعتی بیشتر از کشورهای غیرصنعتی گزارش شده است. در مطالعه‌ای که در آمریکا صورت گرفته لوسمی ششمین نوع سرطان در مردها و هفتمین سرطان در زنان بوده است. در بالغین بیشتر از ۸۰ درصد لوسمی‌های حاد از نوع *AML* و در کودکان از نوع *ALL* می‌باشد (۴،۲۰ و ۲۱).

*ALL* شایعترین لوسمی اطفال بوده و در جنس مذکر بیشتر از مؤنث و در نژاد سفید بیشتر از سیاه دیده می‌شود. ۷۰-۸۰

درصد موارد *ALL* کودکان از نوع *L1* و یک چهارم موارد *ALL* از نوع *L2* و فقط ۲-۱ درصد از کل موارد *ALL* از نوع *L3* می‌باشد. شیوع *L1* با افزایش سن کاهش یافته ولی شیوع *L2* با سن بیمار ارتباطی ندارد و پروگنوز *L2* در کودکان بدتر از *L1* ست ولی در بزرگسالان تفاوتی ندارد (۴،۲۱ و ۲۲).

رنگ آمیزی‌های سیتوشیمیایی غالباً به تشخیص و طبقه‌بندی لوسمی‌ها کمک می‌کند، از میان آنها میلوپراکسیداز، سودان بلاک *B* و *ASD* کلر و استات استراز جهت تشخیص سلولهایی که در حال تمایز گرانولوسیتیک هستند استفاده می‌شود. در *ALL* کمتر از ۳ درصد بلاستها پراکسیداز مثبت هستند در حالی که در *AML* همیشه بیشتر از ۳ درصد و گاهی تا ۹۰ درصد سلولها واکنش مثبت می‌دهد. از استرازهای غیراختصاصی مثل آلفانفتیل بوتیرات یا استات استراز جهت تمایز سلولهای رده منوسیتیک استفاده می‌گردد. پریودیک اسید شیف (*PAS*) نیز با سلولهای لنفوسیتیک و اریترئوئیدی واکنش می‌دهد (۲۲ و ۲۴).

امروزه در سلولهای مختلف و در مراحل مختلف تمایز آنتی‌ژنهای پروتئینی را با استفاده از آنتی‌بادیهای منوکلونال شناسایی کرده‌اند و این آنتی‌ژنها را بر حسب شماره گروه تمایز *Cluster of differentiation (CD)* شماره‌گذاری نموده‌اند. انواع خاصی از این آنتی‌ژنها عمدتاً بر روی رده مشخصی از سلولها و همچنین در مراحل مختلف تمایز عرضه می‌گردند که شناسایی این آنتی‌ژنها پایه تشخیصهای ایمونولوژیک در لوسمی‌ها می‌باشد (۴ و ۵). برای بررسی مارکرهای سلولی از میکروسکوپ فلورسنت، روشهای ایمونوآنزیماتیک، فلوسیتومتر و *Fluorescent activated cell sorter (FACS)* می‌توان کمک گرفت (۴،۱۳ و ۲۱).

اگرچه بجز *B-ALL* هیچ ارتباطی بین ایمونوفنوتیپ *ALL* و طبقه‌بندی مورفولوژیک به دست نیامده ولی در *AML* یافته‌های مورفولوژیک با ایمونوفنوتیپ سلولها تطابق بیشتری دارد. اکنون مشخص شده که علاوه بر فاکتورهای مؤثر در پیش‌آگهی لوسمی نظیر سن بیمار، شمارش *WBC* در زمان تشخیص، ناهنجاریهای خاص سیتولوژیک و محتویات *DNA* موجود در سلول، فنوتیپ ایمنی نقش مهمی در پیش‌آگهی

داراست، به طوری که مثلاً *T-ALL* در بزرگسالان حاکی از پیش آگهی بهتر بوده و در کودکان این طور نیست. همچنین مشخص شده که حدود ۲۰-۵ درصد لوسمی‌های حاد در مطالعات ایمونولوژیک حالت *Mixed Lineage* و *Biphenotyping* داشته چیزی که قبلاً با مشخصات مورفولوژیک قابل تشخیص نبود، لذا به علت تشخیص غلط درمان موفق صورت نمی‌گرفت (۴۰، ۴۱).

در نوع خاصی از زیر گروه *M3 (M3-Variant)* سلولها از نظر مورفولوژیک بسیار شبیه به رده منوسیتیک بوده و در ۲۵ درصد موارد حتی با استرازهای غیر اختصاصی واکنش شدید می‌دهند و نظر به متفاوت بودن درمان *M3* با سایر زیرگروههای *AML* لزوم شناسایی مارکرهای ایمنی برای تشخیص دقیق لوسمی ضروری است (۴۱، ۴۲).

### روش بررسی

۲۲۱ بیمار مبتلا به لوسمی در بیمارستانهای حضرت علی‌اصغر (ع)، کودکان مفید، شهید مدرس، امام خمینی، طالقانی، حضرت رسول اکرم (ع) مورد مطالعه قرار گرفتند. خون محیطی بیماران روی ماده ضد انعقاد  $EDTA\ 1/2$  میلی‌گرم بازای هر سی‌سی خون تهیه و در اسرع وقت تعداد ۲۰ گستره از هر کدام تهیه گردید و پس از گذشت یک ساعت جهت خشک شدن دو عدد از لامهای خون محیطی و مغز استخوان به وسیله رنگ رایت رنگ آمیزی و مورد بررسی مورفولوژیک قرار گرفتند. سپس بر حسب نیاز تعدادی جهت رنگ آمیزی‌های سیتوشیمیایی استفاده شد. مابقی لامها تک تک بسته‌بندی و تا زمان آزمایش در حرارت ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. سلولها بر اساس خصوصیات هسته (کروماتین، هستک، نسبت *N/C*، شکل هسته و ...) و همچنین خصوصیات سیتوپلاسم (مقدار، رنگ واکوئل، گرانول و *Auer Rod*) بر طبق معیارهای موجود گروه *FAB* طبقه‌بندی گردیدند (۴۳، ۴۴). از رنگ آمیزی‌های سیتوشیمیایی *phosphatase*, *Sudan Black B Alpha*, *Periodic acid shiff (PAS)*, *Alpha naphthyl acetated esterase*, *Alpha Naphthol ASD chloroacetate esterase* نیز به

عنوان مکمل تشخیصهای مورفولوژیک استفاده گردید (۴۱، ۴۲) و بالاخره مارکرهای سلولی با روش *alkaline phosphatase (anti alkaline APAAP phosphatase)* که یک روش ایمونوآنزیماتیک می‌باشد و آنتی‌بادیهای منوکلونال تجارتي (*Dako*) چون *CD10, CD13, CD19, CD20, CD22, CD33, HLA-DR, Glycophorin A, TdT, CD2, CD5*، بررسی شدند، از مزایای این روش علاوه بر حساسیت بالای آن محدود نبودن زمان انجام آزمایش است که می‌توان ماهها لامها را در ۲۰- تا ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری کرد بدون اینکه تغییر چندانی در ماهیت آنتی‌ژنها داده شود و از طرف دیگر مورفولوژی و ایمونوفنوتیپ سلولها را می‌توان توأماً مورد مطالعه قرار داد (۴۵، ۴۶). لامهای حاصل از رنگ آمیزی‌های سیتوشیمیایی و ایمونوآنزیماتیک تک تک توسط میکروسکوپ بررسی و درصد سلولهایی که واکنش مثبت داشتند دقیقاً مشخص گردید. در این مطالعه وقتی بیشتر از ۲۰ درصد سلولها مارکر خاص را بیان می‌کردند برای آن مارکر مثبت تلقی شدند. با این استثناء که حد مرز (*Cut off value*) برای مارکر *TdT* ۱۰ درصد تعیین گردید به طوری که وقتی بیشتر از ۱۰ درصد سلولها بلاست واکنش مثبت نشان دادند *TdT* مثبت ثبت شد.

### نتایج

در این مطالعه ۲۲۱ بیمار مبتلا به لوسمی مورد بررسی قرار گرفت که شامل ۶۳ کودک (تا ۱۴ سال) و ۱۵۸ بزرگسال (بیشتر از ۱۴ سال) می‌باشند.

از ۶۳ مورد لوسمی کودکان ۵۰ مورد *ALL*، ۱۲ مورد *AML* و تنها یک مورد *JCM* تشخیص داده شد. از ۵۰ مورد *ALL* کودکان ۳۲ مورد از نوع *L1*، ۱۷ مورد از نوع *L2* و تنها یک مورد از نوع *L3* بود. در گروه کودکان ۱۲ مورد *AML* وجود داشت که ۸ مورد از نوع *M4*، ۲ مورد *M1* و ۲ مورد *M2* می‌باشد. و از لوسمی‌های مزمن فقط یک مورد *Juvenile CML* در یک دختر ۸ ساله مشخص شد.

از ۱۵۸ مورد لوسمی بزرگسالان ۳۴ مورد *ALL*، ۷۶ مورد *AML*، ۱۹ مورد *CLL*، ۲۴ مورد *CML*، ۴ مورد *HCL* و یک مورد *Plasma cell leukemia* تشخیص داده شد. *ALL* در

بزرگسالان ۳۴ مورد بود که شامل ۱۶ مورد L1 و ۱۸ مورد L2 می‌باشد. (جدول شماره ۱)

در مجموع ۷۶ بیمار بزرگسال مبتلا به AML بودند که زیرگروه‌های آن در جدول شماره ۲ آمده است.

ضمناً CML در بزرگسالان نیز شامل ۲۴ مورد بود که فقط سه مورد از آنها در موقع تشخیص در فاز بلاستیک بودند. یک مورد Plasma cell leukemia در یک مرد ۲۳ ساله به طور اولیه تشخیص داده شد که هیچ سابقه قبلی میلوم مولتیپل نداشته است (De novo case) در خون محیطی این فرد ۲۸ درصد و در مغز استخوان ۷۵ درصد پلاسما سیت وجود داشت.

جدول ۱- فراوانی انواع لوسمی‌ها در دو گروه کودکان و بزرگسالان

نوع لوسمی	گروه کودکان		گروه بزرگسالان	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد
ALL	۵۰	۷۹/۴	۳۴	۲۱/۵
AML	۱۲	۱۹	۷۶	۴۸/۱
CLL	-		۱۹	۱۲
CML	۱	۱/۶	۲۴	۱۵/۲
HCL	-		۴	۲/۵
Plasma cell leukaemia	-		۱	۰/۶
جمع	۶۳	۱۰۰	۱۵۸	۱۰۰

جدول ۲- انواع زیرگروه‌های AML در بیماران بزرگسال

زیر گروه‌های AML	تعداد	درصد
M1	۹	۱۱/۹
M2	۱۹	۲۵
M3	۸	۱۰/۵
M4	۲۳	۳۰/۳
M5	۱۴	۱۸/۴
M6	۱	۱/۳
M7	-	-
M0	۲	۲/۶
جمع	۷۶	۱۰۰

\* ۱۴ مورد M5 شامل ۹ مورد M5a و ۵ مورد M5b بود. برای تمام بیماران رنگ آمیزی Sudan Blak B انجام شد که در ۸۶ مورد از کل ۸۸ مورد AML واکنش مثبت بود، و از مجموع ۸۴ مورد ALL در ۸۱ مورد واکنش SBB منفی بود. رنگ آمیزی PAS برای تمام موارد ALL انجام گرفت که در مجموع با ۶۱ درصد از موارد ALL کودکان واکنش مثبت داد. در بین زیرگروه‌های ایمونولوژیک ALL موارد PAS مثبت در گروه G-ALL بیشتر از گروه‌های دیگر بود. در گروه بزرگسالان واکنش PAS جمعاً در ۵۲ درصد موارد ALL گزارش شد که در مجموع اختلاف معنی‌داری با گروه اطفال نداشته است.

در مطالعات مورفولوژیکی مشخصات سلولی در ۷ مورد شباهت زیادی به ALL-L2 داشت ولی واکنش مثبت استراز غیراختصاصی و سودان بلاک B و منفی بودن مارکرهای لنفوئیدی نهایتاً تشخیص M4 و M5 را مطرح ساخت. آلفانفیل استات استراز همچنین در یک مورد از ۳ مورد M3v واکنش مثبت قوی نشان داد.

پس از تشخیص اولیه گروه و زیرگروه لوسمی بر پایه یافته‌های مورفولوژیک و واکنش‌های سیتوشیمیایی فنوتیپ ایمنی سلولهای لوسمیک در گستره‌های تهیه شده از خون محیطی و یا مغز استخوان با استفاده از مجموعه‌ای از آنتی‌بادیهای مونوکلونال مورد بررسی قرار گرفت.

تمام نمونه‌های AML از نظر مارکرهای HLA-DR, CD13, CD14, CD33, مورد آزمایش قرار گرفتند مارکر CD13 در ۳۸ مورد از ۸۸ مورد AML نشان داده شد که شامل ۸ مورد M1, ۱۸ مورد M2, ۲ مورد M0 و ۱۰ مورد M5 بود.

مارکر CD33 در ۸۴ مورد از کل ۸۸ مورد AML مثبت بود. در این گروه سلولها بین ۹۰-۲۰ درصد (به طور متوسط ۷۴ درصد) این آنتی‌ژن را بیان می‌کردند.

۳۷ مورد AML برای مارکر CD14 مثبت بود که شدت بیان این مارکر در موارد M5b بیشتر (۷۴ درصد) و در موارد M4 و M5a کمتر و به ترتیب ۴۰ درصد و ۵۷ درصد می‌باشد. HLA-DR در ۶۶ مورد از ۸۸ مورد AML در دو گروه کودکان و

جدول ۳- انواع زیرگروه‌های ایمونولوژیک ALL در دو گروه کودکان و بزرگسالان

زیرگروه‌های ایمونولوژیک ALL	گروه کودکان		گروه بزرگسالان	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد
Early Pre-B cell ALL or Common-ALL	۳۴	۶۸	۱۴	۴۱
Pre-B-ALL	۴	۸	۲	۶
B-cell-ALL	۱	۲	-	-
T-cell-ALL	۱۱	۲۲	۱۸	۵۳
جمع	۵۰	۱۰۰	۳۴	۱۰۰

در گروه بزرگسالان نیز C-ALL ایمونوفنوتیپ یکسانی نداشتند و مانند کودکان گروه هتروژنی را تشکیل می‌دهند. در مجموع، موارد T-ALL در این مطالعه از هموژنیسته بیشتری برخوردار بودند، به طوری که در ۲۴ مورد از ۲۹ مورد دارای ایمونوفنوتیپ زیر بودند:

$CD2^+, CD5^+, CD10^-, CD19^-, CD20^-, HLA-DR^-, TdT^+, CD33^-$   
از مجموع ۸۴ مورد ALL مورد مطالعه فقط یک مورد B-Cell ALL در گروه کودکان مشاهده شد که دارای ایمونوفنوتیپ زیر بود.

$CD2^-, CD5^-, CD10^-, CD19^+, CD20^+, CD21^+, CD22^+$   
 $HLA-DR^+, TdT^-$

ایمونوفنوتیپ بیمارانی که از نظر مورفولوژیک CLL تشخیص داده شده بودند نیز با استفاده از آنتی‌بادیهای منوکلونال  $CD2^-, CD5^-, CD19^+, CD22^+, HLA-DR^+$  مورد مطالعه قرار گرفت. در همه ۱۹ مورد CLL دارای واکنش منفی و بر عکس HLA-DR در همه موارد و به طور قوی (بیش از ۷۵ درصد) بیان شد.  $CD5$  که مارکر لنفوسیت‌های T است در همه موارد CLL با درجه متفاوت (۵۵-۲۸ درصد) بیان شد. مولکولهای  $CD19$  در غشاء سلولها به دو صورت ضعیف (۳۹ درصد) و قوی (۶۱ درصد) بیان گردیدند.  $CD22$  در ۱۲ مورد از ۱۹ مورد CLL در بیشتر از ۲۰ درصد سلولها و در بقیه به طور متوسط در ۸ درصد سلولها مثبت بود. بنابراین تمام موارد CLL

بزرگسالان مثبت بود. موارد منفی بیشتر متعلق به زیرگروه‌های  $M3$  و  $M5b$  بود که در ۳ مورد  $M3v$  نیز بر خلاف موارد تیپیک  $M3$  مارکر HLA-DR بیان شد.

فنوتیپ ایمنی برای انواع موارد ALL و موارد مشکوک AML انجام گرفت، با الهام از اطلاعات موجود در منابع، سلولهایی که مارکرهای  $CD19, TdT, HLA-DR$  و قویاً بیان کرده و فاقد آنتی‌ژنهای  $CD2, CD5, CD20, CD22, CD21$  می‌باشند را به عنوان Early pre-B-cell All یا Common All و سلولهایی که دارای مارکرهای  $CD19, CD10, HLA-DR, CD22$  و  $CD20$  (به عنوان Cytoplasmic antigen) و TdT بوده و فاقد  $CD5$   $CD21, CD2$  می‌باشند در دسته pre B-ALL طبقه‌بندی گردیدند. همچنین سلولهایی که آنتی‌ژنهای  $CD19, CD20, CD21, CD22, TdT$  و فاقد مارکرهای  $CD5, CD2$  در دسته B-cell ALL قرار داده شدند و بالاخره آن دسته از موارد ALL که آنتی‌ژنهای  $CD5, CD2$  را قویاً بیان کردند T-cell ALL تقسیم‌بندی شدند.

انواع زیرگروه‌های ایمونولوژیک ALL در دو گروه کودکان و بزرگسالان در جدول شماره ۳ نشان داده شده است.

در میان گروه‌های ایمونولوژیک اختلاف معنی‌دار در بروز T-cell ALL در دو گروه کودکان و بزرگسالان وجود دارد ( $P < 0.001$ ) بیان مارکر TdT در ۷۹ مورد از ۸۴ بیمار ALL مورد بررسی (۹۴ درصد) نشان داده شد که چهار مورد TdT منفی متعلق به سه بیمار با زیرگروه C-ALL و یک مورد B-Cell ALL در گروه کودکان و تنها یک مورد TdT در زیرگروه C-ALL بزرگسالان مشاهده گردید.

۳ مورد از مجموع ۲۹ مورد T-ALL علاوه بر مارکرهای لنفوسیت‌های T دارای مارکرهای سلولهای B نیز بودند. در گروه کودکان زیرگروه‌های ALL هر یک از نظر بیان مارکرها گروه هتروژنی را تشکیل می‌دهند که در C-ALL بیشترین ایمونوفنوتیپ مربوط به فنوتیپ تیپیک ( $CD10^+, CD5^-, CD19^+, CD33^-, TdT^+, HLA-DR^+$ ) C-ALL بود.



در این مطالعه از نوع *B-CLL* بوده و *T-CLL* که لوسمی نادری می‌باشد مشاهده نشد.

در این مطالعه ۴ مورد *HCL* از نظر مورفولوژیک و کلینیکی تشخیص داده شد که در واکنش به *Tartate-resistant acid phosphatase* در سه مورد مثبت و یک مورد منفی بود. ایمونوفنوتیپ *HCL* با *CD22*, *HLA-DR* و واکنش مثبت داد ولی با مارکرهای *CD5*, *CD10* واکنش منفی بود.

۳ مورد از ۲۵ مورد *CML* که در خون محیطی دارای درصد بالایی از بلاست بودند (بیش از ۲۰ درصد)، وجود مارکرهای *CD5*, *CD10*, *CD33* در آنها بررسی شد. در ۲ مورد بلاستها از نوع میلوئید با مارکرهای *CD5*<sup>-</sup>, *CD10*<sup>-</sup>, *CD33*<sup>+</sup> و یک مورد از نوع لنفوئیدی با مارکرهای *CD5*<sup>-</sup>, *CD10*<sup>+</sup>, *CD33*<sup>-</sup> مشخص گردیدند.

سلولهای خون محیطی بیمار مبتلا به *Plasma cell leukemia* دارای ایمونوفنوتیپ *CD22*<sup>-</sup>, *CD5*<sup>-</sup>, *HLA-DR*, *CD2*<sup>-</sup> بود.

### بحث و نتیجه‌گیری

تشخیص نوع لوسمی (خصوصاً لوسمی‌های حاد) برای پیش‌بینی وضعیت بیماری و انتخاب روش درمان در همه موارد با بررسی خصوصیات مورفولوژیک سلولها امکان‌پذیر نبوده و لذا برای رسیدن به تشخیص صحیح به انجام تستهای سیتوشیمیایی و تعیین فنوتیپ ایمنی سلولها و حتی مطالعات سیتوژنیک نیاز می‌باشد. از ۲۲۱ بیمار دچار لوسمی تعداد ۶۳ مورد در کودکان بود که ۷۹/۴ درصد *ALL* و ۱۹ درصد *AML* می‌باشد. این نتایج با مطالعات انجام شده در کشورهای غربی که ۸۰ درصد *ALL* و ۲۰ درصد *AML* و سفیدپوستان آفریقای جنوبی که ۸۱ درصد *ALL* و ۱۹ درصد *AML* لوسمی‌های حاد کودکان را تشکیل می‌دهند کاملاً مطابقت دارد (۴، ۱۷، ۲۱).

این ارقام برای سیاه‌پوستان آفریقای جنوبی به ترتیب ۵۴ و ۴۶ درصد برای *ALL* و *AML* گزارش شده است که با این مطالعه اختلاف معنی‌دار نشان می‌دهد ( $p < 0.01$ ).

در گروه بزرگسالان ۶۷ درصد مبتلا به *AML* و ۳۳ درصد مبتلا به *ALL* می‌باشند که با گزارشات کشورهای غربی که *AML*

در ۸۰ درصد و *ALL* در ۲۰ درصد گزارش شده اختلاف دارند (۴، ۲۱).

از ۱۵۸ بیمار بزرگسالان مبتلا به لوسمی‌های حاد و مزمن ۱۵/۲ درصد *CML* و ۱۲ درصد *CLL* تشخیص داده شد که به ترتیب با ۲۰ و ۳۰ درصد ذکر شده در کشورهای شمال آمریکا و اروپا و نسبتاً نادر در مورد *CLL* در کشورهایی چون چین و ژاپن اختلاف دارد (۴، ۲۱). این اختلاف در مورد *CLL* معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0.01$ ).

زیرگروههای *ALL* کودکان بر اساس سیستم طبقه‌بندی *FAB* با اعداد ذکر شده در منابع همخوانی دارد (۴، ۱۶). در گروه کودکان بیشترین زیرگروه *AML* مربوط به *M4* (۶/۶۶ درصد) بود. در گروه بزرگسالان نیز ۴۷/۱ درصد *L1* و ۵۲/۹ درصد *L2* تشخیص داده شد که این نتایج با گزارشات قبلی که درصد وقوع *L2* را در بزرگسالان بالاتر از *L1* عنوان کرده است مطابقت دارد (۴، ۱۹).

وجود گرانولهای آزروفیلیک در لنفوبلاست‌ها ممکن است تشخیص *AML* را مطرح سازد از این رو در این مطالعه لنفوبلاست بودن این سلولها با واکنش منفی با سودان بلاک *B* و بیان مارکرهای مخصوص لنفوبلاست‌ها مورد تأیید قرار گرفت.

درصد انواع زیرگروههای *AML* بر اساس معیارهای گروه *FAB* (۴، ۲۱) با نتایج حاصل از این مطالعه در اکثر موارد هماهنگی دارد و تنها اختلاف معنی‌دار ( $P < 0.001$ ) در زیرگروه *M4* مشاهده گردید که در این مطالعه بیشتر از کشورهای غربی می‌باشد سودان بلاک *B* که در موارد لوسمی‌های حاد انجام شد، در تمام موارد *ALL* و فقط ۲ مورد از *AML* منفی بود، مطالعات بیشتر نشان داد که این ۲ مورد *AML* شبه *ALL* دارای مارکرهای میلوئیدی و فاقد مارکرهای لنفوئیدی‌اند، لذا با توجه به خصوصیات مورفولوژیکی و ایمونولوژیکی تشخیص *M0* برای آنها داده شد. ایمونوفنوتیپ این دو شامل:

*CD5*<sup>-</sup>, *CD10*<sup>-</sup>, *CD13*<sup>+</sup>, *CD33*<sup>+</sup>, *TdT*<sup>+</sup>, *HLA-DR*<sup>+</sup> و واکنش *PAS* در آنها منفی بود.

واکنش *PAS* در ۶۴ درصد موارد *ALL* کودکان مثبت گردید. در مطالعه‌ای که توسط *Lilleyman* و همکاران در کودکان گروه سنی ۱-۶ سال انجام گرفت این واکنش را در ۵۵ درصد موارد

تمامی ۱۹ مورد CLL دارای مارکرهای لنفوسیت‌های B بودند بنابراین T-CLL در این مطالعه دیده نشد. در این مطالعه بیشترین ایمونوفنوتیپ متعلق به C-ALL در گروه کودکان (۶۸ درصد) و T-cell ALL در ALL گروه بزرگسالان بود که با مطالعات دیگر مطابقت دارد. (۷، ۱۰، ۱۲).

این مطالعه همچنین نشان می‌دهد که جهت تشخیص صحیح و انتخاب درمان مناسب و دانستن پیش‌آگهی بیماری بررسی‌های مورفولوژیک به تنهایی همیشه پاسخگو نیست و از آنجا که رنگ‌آمیزی‌های سیتوشیمیایی نیز گاه نتایج گمراه‌کننده دارد بررسی مارکرهای سلولی از اهمیت زیادی برخوردار است. تذکره: این مقاله خلاصه طرح تحقیقاتی کد ۱۰۱ تحت عنوان «استفاده توأم از روش‌های مورفولوژیک، سیتوشیمیایی و ایمونولوژیک جهت تشخیص و طبقه‌بندی انواع لوسمی‌ها در تهران» می‌باشد که در شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران به تصویب رسیده است.

## REFERENCES

- ۱- امیر غفران زهرا، تعیین فنوتیپ ایمونولوژیک لوسمی لنفوبلاستیک حاد، پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه علوم پزشکی تربیت مدرس سال ۱۳۶۷
- 2) Bennett, Catovsky, D. et al; Proposal for the classification of the acute leukemias; Br.J. Haematol 33: 1976: 451-458
- 3) Bennett.J.M, Catovasdy D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DAG, Grlnick HR & Sultan C; Proposed revised criteria for classification myeloid leukemia; Annals of internal medicine, 103: 1985: 629-920
- 4) Bain, B.J; Leukaemia diagnosis, A Guide to the FAB Classification; Gower Medical Publishing, 1990: 1-112
- 5) Bennett J.M, Catovsky D, Daniel M. T, Flandrin G, Galton DAG Gralnick HR & Sultan C; Proposals for the classification of chronic (mature) B and T

مشاهده کردند<sup>(۱۶)</sup>. در مجموع ۵۲ درصد از موارد ALL بزرگسالان  $PAS^+$  و ۴۸ درصد  $PAS^-$  و ۴۸ درصد  $PAS^-$  بودند، لذا این نتایج ارزش کم PAS را برای تشخیص افتراقی ALL از AML مشخص می‌سازد.

در این بررسی از ۵۰ مورد ALL کودکان ۶۸ درصد C-ALL درصد Pre B-ALL ۲ درصد B-cell ALL و ۲۲ درصد T-cell ALL بودند مطالعاتی که در کشورهای غربی انجام شده زیرگروه‌های ایمونولوژیک ALL را برابر ۶۰-۵۵ درصد C-ALL، ۱۵ درصد Pre B-ALL، ۱ درصد B-cell ALL و ۲۰ درصد T-cell ALL ذکر می‌کنند<sup>(۷، ۱۲)</sup>. مطالعه‌ای که در شیراز روی ۵۵ مورد ALL انجام شده<sup>(۱)</sup> نشان دهنده درصد بیشتری C-ALL (۸۸/۶ درصد) و B-ALL (۵/۸ درصد) و درصد کمتری Pre B-ALL (۲/۸ درصد) T-cell ALL (۰ درصد) و Unclassified (۲/۸ درصد) می‌باشد. که در همه موارد اختلاف معنی‌دار با این مطالعه نشان می‌دهد ( $p < 0.05$ ).

lymphoid Leukaemias; Journal of clinical pathology, (42) 1989: 567-584

6) Borowitz M.J; Immunologic markers in childhood ALL; Hematology, Oncology Clinics of North America; Vol 4, 1990: 729-735

7) Cabrera M.E; Immunologic classification of acute lymphoblastic leukemia; The American Journal of Pediatric Hematology/Oncology, 12: 1990: 283-291

8) Cordell J.L, Falini B, Erber W.N, et al; J-Histochem, Cytochem (32): 1984: 219

9) Erber W.N. & Mason D.Y; Immuno alkaline phosphatase labelling of terminal transferase in haematologic samples; Am. J Clin Pathol (88) 1987: 43-50

10) Furst MIC Cooperative study group;

*Morphologic, immunologic and cytogenetic (MIC) working classification of acute lymphoblastic leukaemia; cancer genetics and cytogenetics 23: 1989: 189-197*

11) *Immunological reagents and kits for research and clinical laboratories; product catalogue, Dako Tech mate, 1995: 139-150*

12) *Janossy G. et al; Terminal transferase enzyme assay and immunological membrane markers in the diagnosis of leukemia; British Journal of Haematology (44) 1980: 221-224*

13) *Lilleyman J.S. et al; Blast vacuoles in childhood lymphoblastic leukemia; Br; J. of haematol(70) 1988: 283-286*

14) *Mason D.Y. Erber W.N. et al; Methods in Haematology, Monoclonal antibodies; Churchill Livingstone 13: 1986, 145-181*

15) *Mc Michael AJ; Leucocyte typing III, White cell differentiation antigens; Oxford; Oxford University Press, 1987: 25-47*

16) *Mc Kenna RW et al; Cytochemical; profiles in ALL; AM.J. Pediatr. Hematol oncol, 1: 1979-263*

17) *Mac Dougall LG; Acute childhood Leukemia in johaunesburg Leuk; Res,(4) 1995: 765*

18) *Nelson DA, Davey FR; leukocyte studies in: Williams WJ, et al, Hamatology, Fourth edition Mc Graw-Hill, 1991: 1747-1753*

19) *Riberio RC et al; Vertebral compression fractures as a presenting feature of acute lymphoblastic leukemia in children; Cancer(61) 1988: 589*

20) *Silver berg E, Lubera J.A; Cancer Statistics CA,(39) 1989:3*

21) *Sullivan A,K; Classification, Pathogenesis, and etiology of neoplastic disease of the hematopoietic system, Wintrob's Clinical Hematology, 9th ed, volume (2), 1993: 1725*

22) *William J.W et al; Hematology, 4th edition, 1991: 236-250*

### تعریف فرآورده‌های گیاهی

گیاهان و یا قسمتی از گیاهان و فرآورده‌های حاصل از آنها به صورت خام و یا فرآوری شده در صورتی که برای پیشگیری، درمان، سلامتی جسم و روان و یا تأثیر بر اعمال فیزیولوژیک بدن بکار روند فرآورده گیاهی تلقی می‌شود.

شورای بررسی و تدوین داروهای گیاهی ایران



# DIAGNOSIS AND CLASSIFICATION OF LEUKEMIAS USING MORPHOLOGIC, CYTOCHEMICAL STAINING PATTERN AND IMMUNOLOGIC CRITERIA IN TEHRAN HOSPITALS

*A. Kazemi, Ph.D.\* , P. Vossough. M.D.\* , A. M.Moazedi, M.D.\* ,  
P. Shahandeh,M.D.\*\*. F. Shokri, Ph.D.\*\*\*, S. Hosseini.Ph.D.\*\*\*\*,  
F. Ahmadi,Ph.D\*\*\*\*\*, A. Farahbakhsh,Ph.D\*\*\*\*\*.*

## ABSTRACT

221 samples of leukemic patients were studied, using morphologic, cytochemical staining pattern and immunophenotyping criteria. Patients included 63 children and 158 adults. Out of the adult group, 110 cases had acute leukemia including 67% AML, 33% ALL. In this group, 24 cases of CML, 19 cases of CLL, 4 cases of HCL and one case of plasma cell leukemia were classified. Out of 63 cases of leukemia in children, 79.4% diagnosed as ALL, 19% AML and 1.6% JCML.

Among subgroups of AML in adults, only M<sub>4</sub> showed to have significant differences ( $p=0.001$ ) with the results from Western countries.

According to FAB criteria, L<sub>1</sub> and L<sub>2</sub> morphology were the most common types of ALL, respectively in children and adults. In adults 15.2% of chronic leukemia belonged to CML and 12% to CLL. The comparison of present results with other studies in Western countries showed the lower incidence of CML and CLL in Tehran. The difference was significant only in CLL.

Immunophenotype of all CLL cases was B-CLL and no T-CLL was observed. The most common immunophenotype of ALL was C-ALL (68%) and T cell ALL (53%) , respectively in children and adults.

**Key words:**      1) Leukemia      2) Morphology  
                         3) Cytochemical      4) Immuno phenotypin criteria

---

\* Faculty Member of Iran University of Medical Sciences and Health Services

\*\* Faculty Member of Shahid Beheshti University of Medical Sciences and Health Services

\*\*\* Faculty Member of Tehran University of Medical Sciences and Health Services

\*\*\*\* Dr. of Lab Medicine

---